Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr.med. K. Kochsiek

EINFLUSS VERSCHIEDENER EIWEISSREDUZIERTER DIÄTFORMEN (UNTER ZUSATZ VON ESSENTIELLEN AMINOSÄUREN BZW. KETOSÄUREN) AUF DEN CYCLISCHEN NUKLEOTIDGEHALT (cAMP, cGMP) IN GEHIRN UND MUSKEL VON CHRONISCH NIERENINSUFFIZIENTEN RATTEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Renate Wieck

aus Braunschweig

Würzburg, den 18. November 1981

1982

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr.med. K. Kochsiek

EINFLUSS VERSCHIEDENER EIWEISSREDUZIERTER DIÄTFORMEN (UNTER ZUSATZ VON ESSENTIELLEN AMINOSÄUREN BZW. KETOSÄUREN) AUF DEN CYCLISCHEN NUKLEOTIDGEHALT (cAMP, cGMP) IN GEHIRN UND MUSKEL VON CHRONISCH NIERENINSUFFIZIENTEN RATTEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Renate Wieck

aus Braunschweig

Würzburg, den 18. November 1981

Referent:	Dr.med.Dr.med.habil. G. Schmid
Korreferent:	Professor Dr.med. K. Kochsiek
Dekan:	Professor Dr.med. K.-A. Bushe

Tag der mündlichen Prüfung: 25.2.1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543522_0069

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	METHODIK	4
1.	Versuchstiere und Tierhaltung	4
2.	Erzeugung der chronischen Niereninsuffizienz	4
3.	Gruppierung der Tiere und Diäten	5
4.	Versuchsprotokoll	9
5.	Analytische Verfahren	10
5.1.	Cyclische Nukleotide	10
5.2.	Bestimmung der harnpflichtigen Stoffe Harnstoff und Kreatinin	12
III.	ERGEBNISSE	13
1.	Charakterisierung der CNI in Abhängigkeit von den verschiedenen Diätformen	13
1.1.	Verlauf der mittleren Serum - Harnstoff - Konzentrationen	13
1.2.	Verlauf der mittleren Serum - Kreatinin - Konzentrationen	16
1.3.	Mittlere Nahrungsaufnahme an Basisdiät	18
1.4.	Verlaufskontrolle der Körpergewichte	20
2.	Verhalten der cyclischen Nukleotide unter verschiedenen Nahrungsregimen	22
2.1.	Mittlere cAMP - Konzentrationen im Gehirn	22
2.2.	Mittlere cGMP - Konzentrationen im Gehirn	24
2.3.	Mittlere cAMP - Konzentrationen im Muskel	26
2.4.	Mittlere cGMP - Konzentrationen im Muskel	28

Seite

IV. DISKUSSION 30

1. Proteingehalt der Diäten, Vergleich mit der Literatur 30

2. Effekte von EAS und KS auf den Gewichtsverlauf 30

3. Korrelation zwischen Gewicht, Harnstoff, Kreatinin und Niereninsuffizienz; Effekte von EAS- und KS - Zusatz 31

4. Kritische Betrachtung der gewonnenen Ergebnisse im Vergleich mit der Literatur 32

5. In der Literatur beschriebene Zusammenhänge zwischen Nahrungsaminosäuren, Neurotransmittern und cyclischen Nukleotiden 33

6. Problematik der cyclischen Nukleotidbestimmung 34

7. Cyclische Nukleotidkonzentrationen, Vergleich mit der Literatur 34

8. Vergleich der EAS- bzw. KS - Zusätze auf cAMP- und cGMP - Konzentration im Gehirn und Muskel 35

V. ZUSAMMENFASSUNG 38

LITERATURVERZEICHNIS I - IV

I. EINLEITUNG

Die cyclischen Nukleotide cAMP und cGMP sind entscheidende Schlüsselsubstanzen für verschiedene biochemische Funktionsabläufe in der Zelle. Sie entstehen intrazellulär, wenn Hormonsignale und Nervenimpulse über spezifische Rezeptoren die zellwandständige Adenyl- oder Guanylcyclase aktivieren. Zu den Hormonen, die über die Cyclasen ihre Wirkung entfalten, zählen u.a. Catecholamine, Parathormon oder Glukagon. cGMP zeigt häufig dem cAMP gegenüber ein gegenläufiges Verhalten. cGMP vermittelt wahrscheinlich einige Effekte des Acetylcholins im ZNS und im peripheren autonomen Nervensystem (11), außerdem scheint es in die Funktion des Rezeptor - Adenylcyclase - Komplexes modulierend einzugreifen. Veränderungen im Nukleotidmetabolismus können daher wichtige Änderungen im Hormonstatus sowie im zellulären Stoffwechsel reflektieren.

Bei der chronischen Niereninsuffizienz (CNI) mit den sehr komplexen Stoffwechselstörungen wurden verschiedenste hormonelle Störungen gefunden, außerdem in verschiedenen Organen Änderungen im Nukleotidstoffwechsel nachgewiesen, deren Ursachen noch nicht geklärt sind; sie könnten u.a. für Störungen im Protein- und Glykogenstoffwechsel verantwortlich gemacht werden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war im wesentlichen, Zusammenhänge zwischen Nukleotidveränderungen und einzelnen nahrungsinduzierten Stoffwechselvorgängen zu untersuchen. Es wurden hierzu zwei verschiedene Organsysteme gewählt: Skelettmuskulatur mit ihrem hohen Proteinstoffwechsel und Gehirn, das einer sehr ausgeprägten neurohormonellen Steuerung unterliegt. Speziell im ZNS wurde die höchste Konzentration an cAMP, sowie an

den cAMP - metabolisierenden Enzymen Adenylcyclase und Phosphodiesterase, nachgewiesen.

Um die Zusammenhänge zwischen Nukleotidmetabolismus und Proteinstoffwechsel zu untersuchen, wurden verschiedene Diäten mit Amino- bzw. Ketosäurenzusatz (s.u.) gegeben und ihre Effekte auf die Nukleotidkonzentrationen gemessen. Basis war eine proteinarme Diät. Da bei der CNI eine Retention harnpflichtiger Stoffe aus dem Proteinabbau auftritt, muß die Menge des Nahrungseiweißes je nach verbleibender Restfunktion der Niere eingeschränkt werden. Der Einsatz einer proteinarmen Diät bewirkt klinisch zumindest vorübergehend eine Verbesserung der allgemeinen Verfassung mit Abschwächung der Urämiesymptome, sowie eine Senkung der Serum - Harnstoff - Konzentration (1).

Langzeitbehandlung begrenzt jedoch den Wert der Proteineinschränkung, weil sie zu negativer Stickstoffbilanz, Katabolismus, Azidose und Aminosäurenerschöpfung führt (3). Die verminderte Eiweißaufnahme erfordert also ein besonders hochwertiges, d.h. anabolisierbares Protein. Durch Zugabe essentieller Aminosäuren (= EAS) in einem ausgewogenen Verhältnis ist es möglich, die Nahrungsproteine biologisch aufzuwerten. Dabei ist es wichtig, daß die geringe Menge an Aminosäuren nicht zur Energiegewinnung herangezogen wird, sondern daß ein ausreichender Kaloriengehalt der Nahrung durch Fett und Kohlenhydrate gewährleistet ist.

GIORDANO (12) wies 1963 nach, daß urämische Patienten mit proteinfreier Ernährung in eine positive Stickstoffbilanz gebracht werden konnten, wenn sie zusätzlich EAS bekamen und dabei scheinbar ihren eigenen Harnstoff - N für die Eiweißsynthese nutzten. Bei verschiedenen Arbeits-

gruppen ergaben sich Hinweise darauf, daß die Ketosäure-analogen (= KS) der EAS als Diätzusatz bei der CNI noch effektiver sein könnten als die EAS selbst (2, 12, 27, 28, 36). Da den KS der Aminostickstoff fehlt, kommt ihre Eingabe fast einer Aminosäurengabe ohne Erhöhung der Stickstoffbeladung des Organismus gleich.

RICHARDS (25) zeigte als erster am Beispiel des Valins, daß eine in - vivo - Synthese der EAS aus ihren KS - Vorstufen bei proteinarmer Diätgabe möglich ist. Somit ist nur das Kohlenstoffgerüst und nicht die Aminosäure selbst essentiell. Sowohl die Keto- als auch die Hydroxyanalogen können im menschlichen Metabolismus die entsprechende Aminosäure ersetzen (5, 24), mit Ausnahme von Lysin, Threonin und evtl. Histidin (23).

In der vorliegenden Arbeit wurden im einzelnen folgende Fragestellungen bearbeitet:

1. Welchen Einfluß hat die zusätzliche Gabe von EAS bzw. KS zu einer proteinarmen Diät auf die cyclischen Nukleotide im Gehirn und im Muskel bei cni Ratten?

2. Wie lassen sich eventuelle Unterschiede bewerten?

II. METHODIK

1. Versuchstiere und Tierhaltung

Die Untersuchungen wurden an weiblichen Ratten des Wistarstammes (Fa. Iwanovas, Kissleg/Allgäu) durchgeführt, deren Ausgangsgewicht 180 - 200 g betrug. Die Tiere waren in Einzelkäfigen in klimatisierten Räumen (Temperatur 24°C, Luftfeuchtigkeit 60 %, konstanter Tag - Nacht - Rhythmus) untergebracht. Die Ernährung erfolgte entsprechend den unten beschriebenen Diäten.

Leitungswasser wurde in Trinkflaschen ad libitum angeboten.

2. Erzeugung der chronischen Niereninsuffizienz

CHANUTIN u. FERRIS (4) haben bereits 1932 gezeigt, daß die Entfernung von etwa 5/6 des Nierenparenchyms, nämlich einer Niere und beider Pole der anderen Niere, mit dem Leben vereinbar ist, jedoch eine chronische Niereninsuffizienz nach sich zieht.

HEINE u. ROMEN (17) haben die morphologischen Veränderungen in der Restniere untersucht und herausgefunden, daß auf die durch Resektion erzeugte Phase des akuten Nierenschadens eine Phase der kompensatorischen Nierenvergrößerung folgt (3. Tag bis 6. Woche post op.). In diesem Zeitabschnitt wird die restliche Niere um das 5 - 6 fache schwerer, so daß schließlich 70 % von dem erreicht werden, was beide Nieren gleichaltriger Kontrollen wiegen. Aufgrund dieser Tatsache ist zur Erzeugung einer konstanten chronischen Niereninsuffizienz eine Nachresektion der hypertrophierten Restniere notwendig.

Basierend auf diesen Untersuchungen wurde die chronische Niereninsuffizienz durch 5/6 - Nephrektomie (einschließlich Nachresektion) erzeugt. Im einzelnen wurde folgendermaßen vorgegangen: In Äthernarkose wurde die rechte Niere durch eine operativ geschaffene Lücke hervorgedrückt, an beiden Polen die Kapsel scharf gespalten, die Nierenpole abgebunden und in einem nach medial hin offenen Winkel unter Schonung des Nierenbeckens abgetrennt. Die Resektionsflächen wurden dabei von dem überschüssigen Kapselmaterial gedeckt. Nach Rückverlagerung der resezierten Niere in das Retroperitoneum wurde anschließend die linke Niere nach Ligatur von a. und v. renalis und des Ureters von lumbal her entfernt, nachdem sie zur Schonung der Nebenniere vorher entkapselt worden war. Dann erfolgte der Verschluß beider paravertebralen Muskellücken und des medianen Hautschnitts.

2,5 Wochen nach der ersten Operation wurde die Nachresektion angeschlossen, wobei die hypertrophierte Restniere mit dem Thermokauter abgetragen wurde.
Um einen vergleichbaren Operationsstreß zu erzielen, wurden die Kontrollratten gleichzeitig scheinoperiert.

3. Gruppierung der Tiere und Diäten

Die Gruppierung der Ratten und ihrer Diäten ist in Tab. 1 schematisch dargestellt. Die Einteilung erfolgte einerseits in chronisch niereninsuffiziente Tiere und ihre verschiedenen Kontrollen (nahrungsreduziert bzw. ad libitum ernährte scheinoperierte Ratten) sowie andererseits nach den drei untersuchten Diäten.

Jede Gruppe erhielt als Grundnahrung eine proteinarme Basisdiät mit nur 6 % Eiweiß (Tab. 2, 3, 4).

Tab. 1: Gruppierung der Versuchstiere

	nur proteinarme Basisdiät	Basisdiät + EAS	Basisdiät + EAS + KS
chronisch urämische Ratten	n = 12	n = 12	n = 12
scheinoperierte Kontrollratten			
a. Basisdiät reduziert (Paarfütterung)	n = 12	n = 12	n = 12
b. Basisdiät ad libitum	n = 8	n = 8	n = 8

Tab. 2: Proteinarme Basisdiät nach HARTROFT u. EISENSTEIN in Modifikation

Pro Kg sind enthalten:

Casein:	60 g = 6 % Eiweiß, d.h. proteinarm
Mazolaöl:	70 g
Salzmischung:	46,98 g (s. Tab. 3)
Vitaminmischung:	20 g (s. Tab. 4)
Methionin:	5 g
Kleie:	50 g
Dextrose ad 1000:	608,02 g
Stärke:	140 g

Tab. 3: Salzmischung pro 1 Kg Diät

NaCl	13,3 g
K_2HPO_4	9,43 g
$MgSO_4 \times 7\ H_2O$	8,2 g
$CaCO_3$	9,04 g
$Ca_5(PO_4)_3OH$	6,45 g
$FePO_4$	0,523 g
$CuSO_4 \times 5\ H_2O$	0,03 g
$MnSO_4$	0,008 g

Tab. 4: Vitaminmischung pro Kg Diät

Vit. A	2,0 g	Cholin - Cl	75,0 g
Vit. C	45,0 g	Menadion	2,25 g
Vit. D	0,01 g	p-Aminobenzoesäure	5,0 g
Vit. E	5,0 g	Nicotinsäure	4,5 g
Vit. B_2	1,0 g	Ca-Pantothenat	3,0 g
Vit. B_6	1,39 g	Biotin	0,02 g
Vit. B_{12}	0,00135 g	Folsäure	0,09 g
Inositol	5,0 g	Dextrose ad 1000	850,73865 g

Da bei den chronisch niereninsuffizienten Ratten sowohl die Effekte einer urämieinduzierten Unterernährung als auch spezifische Störungen des Aminosäuremetabolismus zu erwarten waren, wurden die scheinoperierten Kontrollratten in Gruppen mit reduzierter Nahrungsaufnahme (Paarfütterung) und freier Nahrungsaufnahme aufgeteilt. Die Menge der proteinarmen Basisdiät, die die cni - Ratten gefressen hatten, wurde jeden Tag durch Rückwägung

bestimmt. Die Nahrungsaufnahme der paargefütterten Kontrollratten wurde auf die Menge reduziert, die die korrespondierende cni - Ratte am vorhergehenden Tag selbst gewählt hatte. Während die 1. Gruppe nur proteinarme Basisdiät erhielt, bekam die 2. Gruppe zusätzlich eine EAS - Mischung (Tab. 5), die 3. Gruppe zusätzlich eine KS/EAS - Mischung (Tab. 6) per Schlundsonde täglich verabreicht.

Tab. 5: EAS - Mischung

L - Histidin	0,54 g
L - Lysin (monoacetat)	0,9 g
L - Threonin	0,67 g
L - Tryptophan	0,33 g

1 g EAS - Gemisch wurde mit 6 ml 1 %iger Tylose zur Stabilisierung der Suspension vermischt, davon bekam jede Ratte pro Tag 0,72 ml entsprechend 120 mg EAS - Mischung.

Tab. 6: KS/EAS - Mischung

Gemisch nach WALSER (36) aus 4 Ketosäuren (= Ca-Salze der Aminosäurenanaloga) und DL - Hydroxy - Methionin (Ca - Salz) + 4 essentielle Aminosäuren

CO - Isoleucin	2,8 g
CO - Leucin	3,5 g
CO - Valin	3,7 g
CO - Phenylalanin	1,9 g
OH - Methionin	2,1 g
L - Histidin	0,54 g
L - Lysin (monoacetat)	0,9 g
L - Threonin	0,67 g
L - Tryptophan	0,33 g

1 g in Wasser schwerlösliche KS/EAS - Mischung wurde mit 6 ml 1 %iger Methylzellulose als Emulgator vermengt. Von dieser Suspension erhielt jede Ratte der KS/EAS - Gruppe pro Tag 0,72 ml per Schlundsonde verabreicht, das sind 120 mg KS/EAS - Gemisch bzw. 103,2 mg KS und 16,8 mg EAS.

Berechnung der KS/EAS - Zusatzmengen pro Ratte:

Ein chronisch niereninsuffizienter Patient bekommt pro Kg Körpergewicht 150 mg KS/EAS- bzw. EAS - Mischung verordnet. Da die Ratte gegenüber dem Menschen einen 4-fach höheren Stoffwechselumsatz hat, bekommt sie pro Kg 600 mg, bzw. pro 200 g Ratte 120 mg KS/EAS- bzw. EAS - Mischung. Die EAS- bzw. KS/EAS - Mischung wurde von der Firma J. PFRIMMER & CO (Erlangen) zusammengestellt entsprechend den bei den urämischen Patienten verordneten Diäten.

4. Versuchsprotokoll

Die differenzierte diätetische Behandlung wurde über 6 1/2 Wochen durchgeführt. Vor Einteilung der Gruppen erhielten alle Tiere die gleiche Standardrattendiät (Altromin), bis die akute Nierenschädigung in eine chronische Niereninsuffizienz übergegangen war.

Zur Verlaufskontrolle der Serumharnstoff- und -kreatininkonzentrationen und damit des Schweregrads der chronischen Niereninsuffizienz wurde Rattenblut untersucht, viermal an den unten angegebenen Tagen und nach Tötung (Abb. 1). Die Blutentnahme von jeweils etwa 1 ml erfolgte in Äthernarkose durch Punktion des venösen Plexus im medialen Augenwinkel. Während des Versuchs starben 6 Tiere aus verschiedenen Gruppen.

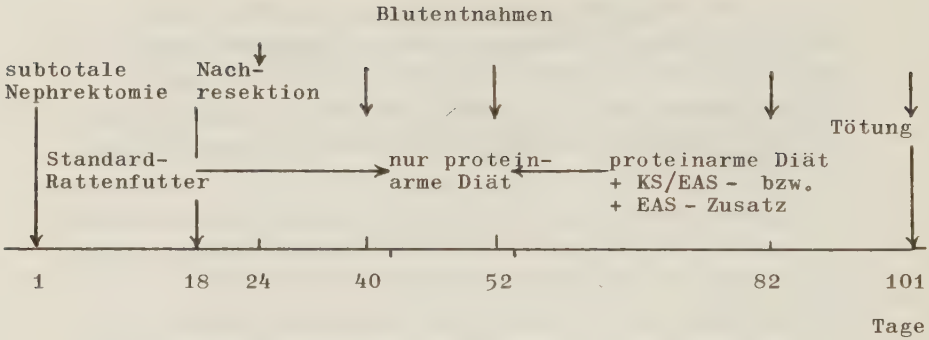

Abb. 1: Allgemeines Schema des Versuchsablaufes

5. Analytische Verfahren

5.1. Cyclische Nukleotide

5.1.1. Extraktion

Das Gehirn der ohne Praemedikation getöteten Ratten wurde, bei allen Ratten gleich, innerhalb von 30 sec aus der Schädelkapsel entnommen und 30 sec lang einer Mikrowellenbestrahlung ausgesetzt unter Benutzung eines kommerziellen Mikrowellenapparates (Fa. Siemens, Erlangen, Modell HF 0630). Die Zeiten waren genormt, da sich die cAMP - Konzentration postmortal sehr schnell ändert (32).

Durch Mikrowellenbestrahlung wird eine Hitzeinaktivierung der Enzyme des Cyclo - Nukleotid - Metabolismus (Adenylcyclase, Phosphodiesterase) erreicht. cAMP und cGMP selbst sind hitzestabil. Nach dem Wiegen und Zusatz von 2,5 ml 1N - Perchlorsäure wurden die Gehirne homogenisiert und zentrifugiert (bei 900 g, 15 Min., $4^{o}C$). Um das cAMP bzw. cGMP aus den Organextrakten zu isolieren, wurden die Überstände dekantiert und zur Rei-

nigung über eine Säule mit neutralem Aluminiumoxid gegeben (38). Bereits zur Homogenisation des Gehirngewebes wurde zusätzlich eine bestimmte Menge Tritium - markiertes cAMP bzw. cGMP als innerer Standard zugesetzt (spezifische Aktivität des cAMP* 26 Ci/nmol; Fa. Amersham Buchler, Braunschweig), um den cAMP- bzw. cGMP - Verlust während der Aufarbeitung bis zur quantitativen cyclo - Nukleotidbestimmung kalkulieren zu können. Die Wiedergewinnung des zugegebenen Tr^3 - cAMP betrug 80 %, die des Tr^3 - cGMP 65 %. cAMP und cGMP wurden radioimmunologisch mit dem SCHWARZ/MANN Radioimmunassay - Kit (Heidelberg) gemessen.
Ebenfalls innerhalb von 30 sec wurde den getöteten Tieren Oberschenkel- und Nackenmuskulatur entnommen und analog der Gehirnaufarbeitung behandelt.

5.1.2. Radioimmunologische Bestimmung

Der Radioimmunassay für cAMP beruht auf der Reaktion von cAMP als Antigen mit seinem spezifischen Antikörper (= AK). Dieser AK wird mit der gereinigten Probe, die das zu bestimmende cAMP (= Ag = Antigen) enthält, und einer bekannten Menge an radioaktivem Ag (Succinyl - cAMP - Tyrosin - Methylester ^{125}J) gemischt. Endogenes und markiertes Ag konkurrieren mit denselben aktiven Bindungsstellen an dem Ak. Während der Inkubationszeit von 19 Std. bildet sich ein Gleichgewicht zwischen markiertem und unmarkiertem Ag - Ak - Komplex. Aus der Menge an gebildetem markiertem Komplex kann man über eine Standardkurve auf die unmarkierte Ag - Konzentration rückschließen. Je mehr markiertes cAMP - Ag an den Ak gebunden ist, um so geringer ist die Menge des nichtmarkierten cAMPs der Probe.
Der cAMP - Ak wurde bei Kaninchen gegen eine Succinyl - cAMP - Albumin - Verbindung gewonnen. Kreuzreaktionen dieser cAMP - Ak mit cGMP, AMP und ATP wurden getestet

und sind praktisch zu vernachlässigen. Der Ak kann als spezifisch für cAMP angesehen werden.
Zur Verdrängung von einem Äquivalent cAMP wäre eine 10^4-fach höhere Menge von cGMP und eine mehr als 10^6-fach höhere Menge an AMP oder ATP erforderlich. Dementsprechendes gilt auch für die Reaktion von cGMP mit seinem spezifischen Ak und ist hier besonders wichtig, da die endogenen cAMP - Konzentrationen das 10- bis 50-fache der cGMP - Konzentrationen betragen (35). Analog der cAMP - Bestimmung wird cGMP durch Verwendung eines cGMP - spezifischen Ak bestimmt.

5.2. Bestimmung der harnpflichtigen Stoffe
Harnstoff und Kreatinin

5.2.1. Die Serum - Harnstoffbestimmung erfolgte im Autoanalyzer nach MARSH (22).

5.2.2. Die Serum - Kreatininbestimmung erfolgte im Autoanalyzer nach JAFFÉ.

III. ERGEBNISSE

1. Charakterisierung der CNI in Abhängigkeit von den verschiedenen Diätformen

1.1. Verlauf der mittleren Serum - Harnstoff - Konzentrationen

Die Serum - Harnstoff - Konzentrationen werden in Abb. 2 dargestellt.
Vor Beginn der Schlundsondenfütterung, am 40. Tag post op., lagen die Serum - Harnstoffwerte bei 27,2 ± 3,5 (± SD) mg% (= Normalwerte). Unter den Bedingungen der Nahrungsrestriktion war der Harnstoff um 21 bis 29 % ($p < 0,01$) erhöht. Die cni Ratten zeigten einen Harnstoffanstieg auf 140,7 ± 43,3 (± SD) mg%.

Zwölf Tage später war der Serum - Harnstoff bei proteinarmer Diät ad lib. auf 19,4 ± 3,1 (± SD) mg% erniedrigt. Bei den cni Ratten war der Serum - Harnstoff gegenüber den proteinarm ernährten Kontrolltieren zwischen 48 % und 89 % ($p < 0,01$) erhöht.

Am 82. Tag post op. (= 28. Tag nach Beginn der Schlundsonden-Fütterung) war der Harnstoff weiterhin erniedrigt: bei den normalernährten Kontrolltieren um -49 % ($p < 0,001$), bei EAS - Zusatz um -4 % und bei KS - Zusatz um -29 % ($p < 0,01$). Die Serum - Harnstoffwerte waren bei den mangelernährten und den cni Tieren gegenüber vorher nur geringfügig verändert, EAS- bzw. KS - Zusatz führten zu keiner signifikanten Differenz.

101 Tage post op., am Tage der Dekapitation, waren die Harnstoffwerte bei den proteinarm ernährten Kontrolltieren angestiegen um +55 % und bei Nahrungsrestriktion

unverändert, wobei EAS- bzw. KS - Gabe keine Veränderung induzierte. Bei den cni Tieren fand sich durch EAS- bzw. KS - Zusatz kein signifikanter Unterschied gegenüber alleiniger proteinarmer Diätgabe, allerdings waren die Harnstoffwerte gegenüber den normalernährten sowie den mangelernährten Tieren wieder signifikant erhöht um +120 % ($p < 0{,}001$) bis +250 % ($p < 0{,}01$).

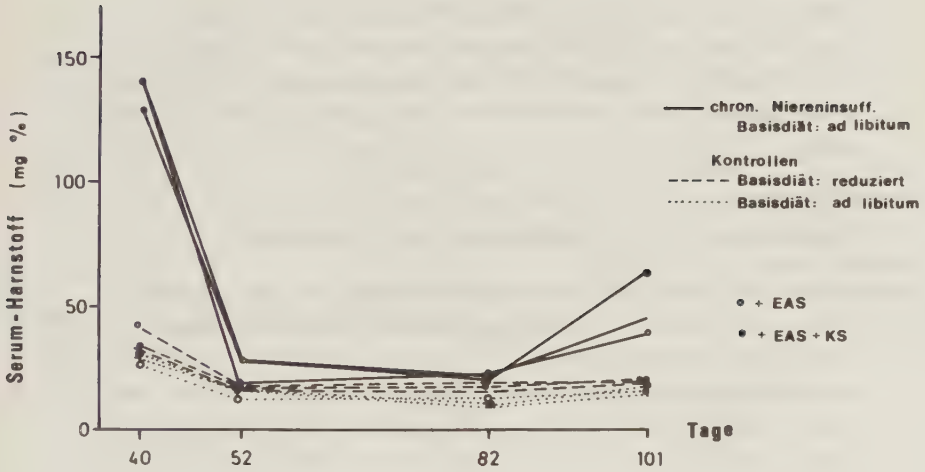

Abb. 2: Verlauf der mittleren Serum - Harnstoff - Konzentrationen bei den chronisch nieren-insuffizienten Ratten sowie ihren Kontroll-gruppen.
Die EAS und Ketoanalogen wurden den entsprechenden Gruppen als Zusatz zu einer proteinarmen Diät per Schlundsonde verabreicht (EAS und KS/EAS je 120 mg/die).

Mittelwerte, n = 7 bis 12 Ratten pro Gruppe

- • proteinarme Diät
- o proteinarme Diät + EAS
- ● proteinarme Diät + KS/EAS

1.2. Verlauf der mittleren Serum - Kreatinin - Konzentrationen

Die Serum - Kreatinin - Konzentrationen werden in Abb. 3 gezeigt.
Vor Beginn der proteinarmen Diätgabe, am 40. Tag post op., betrug der Serum - Kreatiningehalt 0,6 ± 0,06 (± SD) mg% (= Normalwert). Die Kreatininwerte bei den cni Ratten lagen durchschnittlich bei 1,46 ± 0,3 (± SD) mg%.

12 Tage später waren die Werte bei Gabe von proteinarmer Diät allein nur unwesentlich verschoben.

Am 28. Tag der Schlundsondenfütterung war das Serum - Kreatinin bei den ad lib. ernährten Tieren gegenüber dem vorausgegangenen Wert um -20 % gesunken, bei den mangelernährten unverändert und bei den cni Ratten um -33 % abgefallen. Die Unterschiede bei zusätzlicher EAS- bzw. KS - Gabe waren nicht signifikant.

Am Tag der Dekapitation betrug die Serum - Kreatininkonzentration bei der proteinarm ernährten Kontrollgruppe 0,43 ± 0,16 (± SD) mg%, unter Nahrungsrestriktion ergab sich keine signifikante Veränderung. Bei den cni Ratten war das Serum - Kreatinin gegenüber den beiden Kontrollgruppen nur noch um +43 % ($p < 0,05$) erhöht.

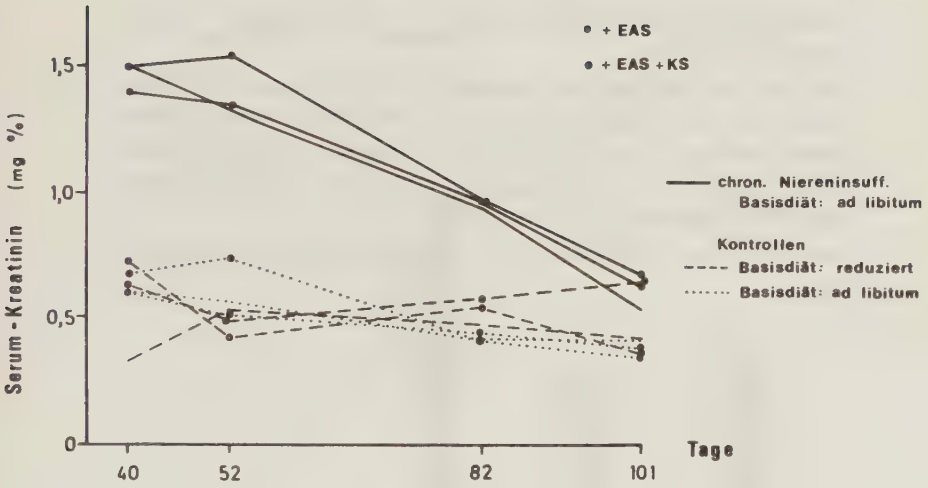

Abb. 3: In Analogie zur Abb. 2 wird der Verlauf der mittleren Serum - Kreatinin - Konzentrationen dargestellt.

Mittelwerte, n = 7 bis 12 pro Gruppe

1.3. Mittlere Nahrungsaufnahme an Basisdiät

Die Nahrungsaufnahme wird in Abb. 4 dargestellt.

Die ad libitum ernährten Kontrollratten fraßen täglich im Durchschnitt 23 g $\pm$ 6 ($\pm$ SD) g.
Diese Menge ist bei EAS- bzw. KS - Zusatz nicht signifikant verändert.
Die cni Ratten und die Gruppen unter Nahrungsrestriktion, die den cni Ratten in der Mange der Nahrungsaufnahme angepaßt waren, fraßen durchschnittlich nur etwa 64 % ($p < 0{,}001$) an Nahrung, verglichen mit den normalernährten Kontrollen.
Auch hier bewirkte EAS- bzw. KS - Zusatz keine Veränderung.

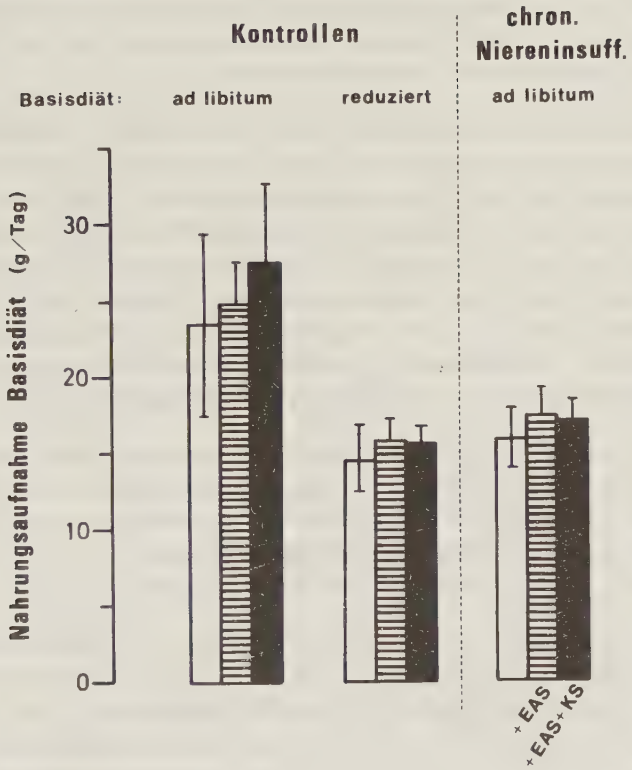

Abb. 4: Mittlere tägliche Nahrungsaufnahme an proteinarmer Diät (vom 52. - 88. Tag post op.) bei den chronisch niereninsuffizienten Ratten sowie den entsprechenden Kontrolltieren.

Mittelwerte ± SD, n = 7 - 12 Ratten pro Gruppe

□ = proteinarme Basisdiät

▤ = proteinarme Basisdiät + EAS

■ = proteinarme Basisdiät + KS/EAS

1.4. Verlaufskontrolle der Körpergewichte

Der Verlauf der Körpergewichte wird in Abb. 5 gezeigt. Bei den mit proteinarmer Diät ad lib. ernährten Tieren kam es zu einem leichten Gewichtsanstieg, der bei EAS/KS - Zusatz nicht mehr nachzuweisen war.

Bei den mangelernährten Tieren zeigte sich im Gegensatz zu den ad lib. ernährten eine Verminderung des Körpergewichtes auf -10 g des Ausgangsgewichtes. Die Tiere waren zum Zeitpunkt des Tötens durchschnittlich 16 g leichter als die ad lib. ernährten. Zusätzliche Gabe von EAS und KS hatte auf das Endgewicht keinen Einfluß, die Endgewichte waren bei den mangelernährten Ratten gleich, d.h. bei der Schlundsondenfütterung war im Gegensatz zu der Normalgruppe kein Gewichtsabfall nachzuweisen.

Bei den cni Tieren war unter proteinarmer Diät das Endgewicht 5 g geringer als das Ausgangsgewicht, zusätzliche Gabe von EAS und KS führte indessen zu einer Zunahme des Endgewichtes. Dabei bestand zwischen der EAS- und EAS + KS - Gabe kein signifikanter Unterschied.

Das Wachstum zwischen cni Tieren und den paargefütterten Kontrollratten war nicht identisch. Grund dafür könnte sein, daß die paargefütterten Kontrollen eine stärkere physische Aktivität zeigten und sehr wahrscheinlich unterschiedliche Nutzung der aufgenommenen Kalorien (16), so führte die Nahrungsreduktion trotz EAS- und KS - Gabe zur Gewichtsabnahme, während bei den vergleichbaren cni Tieren ein Gewichtsanstieg zu verzeichnen war.

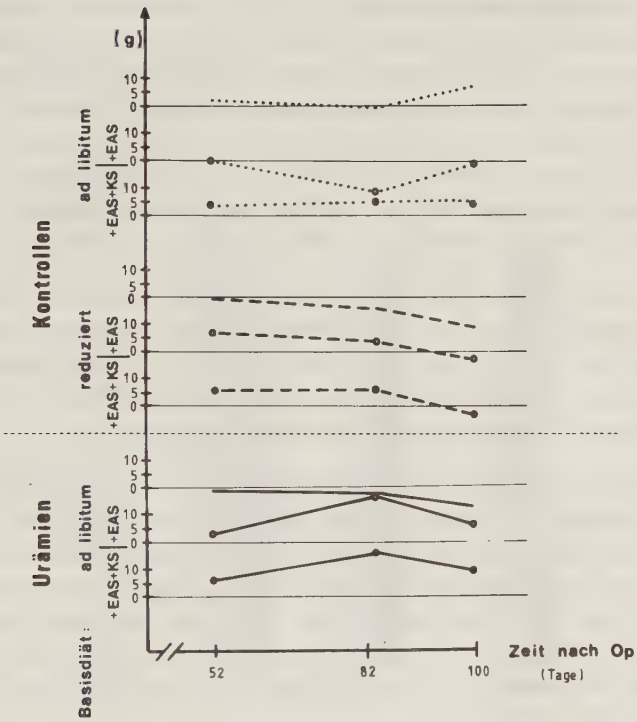

Abb. 5: Effekte von EAS- und Ketoanalogenzusätzen zu einer proteinarmen Diät auf den Verlauf der Körpergewichte der chronisch niereninsuffizienten Ratten und ihrer Kontrollgruppen.
Mittelwerte, n = 7 - 12 pro Gruppe

2. Verhalten der cyclischen Nukleotide unter verschiedenen Nahrungsregimen

2.1. Mittlere cAMP - Konzentrationen im Gehirn

Der Einfluß eiweißreduzierter Diäten unter EAS- bzw. KS/EAS - Zusatz auf den cAMP - Gehalt des Gehirns von cni Ratten ist in Abb. 6 dargestellt. Die Harnstoffwerte der cni Ratten lagen gegenüber einem Normalwert von 15,4 ± 3,4 (± SD) mg% zwischen 40 ± 10 und 64 ± 44 (± SD) mg% (n.s.). Zum Ausschluß von Effekten der verminderten Nahrungsaufnahme wurden zwei Arten von Kontrollgruppen gebildet: nahrungsreduzierte und ad libitum ernährte.

Der cAMP - Gehalt bei den ad lib. ernährten Kontrollratten betrug 13,38 ± 1,88 (± SEM) pmol/mg Protein. Zusätzliche EAS - Gabe bewirkte einen Anstieg der cAMP - Konzentrationen im Gehirn um +14 % (n.s.). Bei zusätzlicher KS - Gabe fanden sich nahezu identische Werte.

Unter den Bedingungen der Nahrungsrestriktion, im Sinne der Paarfütterung mit den cni Ratten, war der cAMP - Gehalt bei proteinarmer Diät allein im Vergleich zu den ad lib. ernährten Tieren um -15 % ($p < 0,05$) erniedrigt. Auch hier bewirkte zusätzliche Gabe von EAS keine Änderung des cAMP - Gehaltes. Wurden zu den EAS noch KS gegeben, so fand sich bei Nahrungsrestriktion ein Anstieg um +21 % ($p < 0,01$).

In der Gruppe der cni Ratten war der cAMP - Gehalt bei proteinarmer Basisdiät allein im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen, sowohl zur ad lib. ernährten (-39 %, $p < 0,001$), wie zur nahrungsreduzierten (-28 %, $p < 0,01$) signifikant erniedrigt. Zusätzliche Gabe von EAS induzierte einen cAMP - Anstieg von +27 % ($p < 0,05$) auf vergleichbare Werte mit der Gruppe bei Nahrungsrestriktion, der durch zusätzliche Gabe von KS noch stärker ausfiel (+79 %, $p < 0,001$). Bei KS - Gabe fanden sich Werte wie in den Kontrollgruppen.

GEHIRN

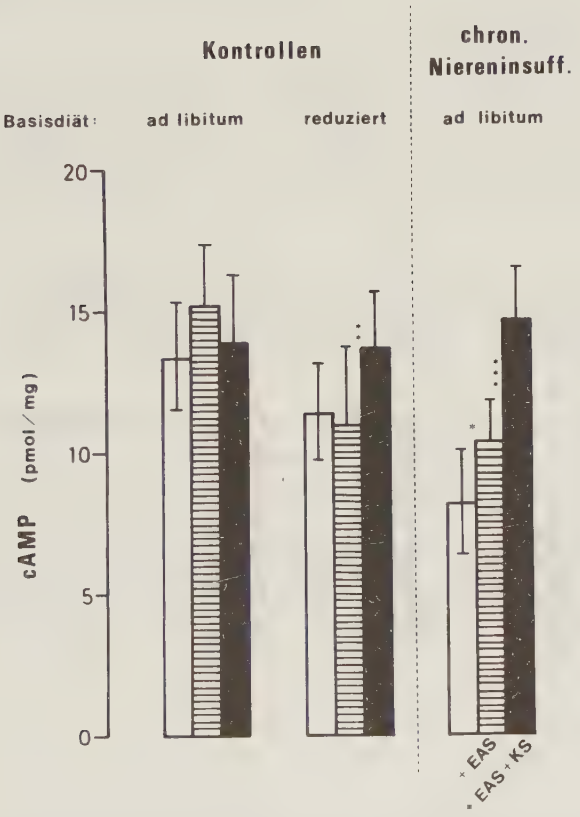

Abb. 6: Mittlere cAMP - Konzentrationen im Gehirn chronisch niereninsuffizienter Ratten und ihrer Kontrollgruppen. Einfluß von zusätzlicher EAS- und KS - Gabe zu einer proteinarmen Diät.

Mittelwerte ± SEM, n = 6 - 12 Ratten pro Gruppe

□ = proteinarme Basisdiät

▤ = proteinarme Basisdiät + EAS

■ = proteinarme Basisdiät + KS/EAS

*** = $p < 0{,}001$

** = $p < 0{,}01$

* = $p < 0{,}05$

2.2. Mittlere cGMP - Konzentrationen im Gehirn

Der Einfluß verschiedener eiweißreduzierter Diätformen auf den cGMP - Gehalt im Gehirn von cni Ratten ist in Abb. 7 dargestellt.
Bei proteinarmer Diät betrug der cGMP - Gehalt im Gehirn 428 $\pm$ 54 ($\pm$ SEM) fmol/mg.
Zusätzliche EAS - Gabe führte zu einer Erniedrigung des cGMP - Gehaltes um -28 % ($p < 0,05$), zusätzliche KS - Gabe um -16 % (n.s.).

Bei Nahrungsrestriktion gab es zwischen den cGMP - Konzentrationen bei allen drei Diäten gegenüber den normalernährten Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Bei den cni Tieren war cGMP bei proteinarmer Diät im Vergleich zu den ad lib. ernährten Tieren um -18 % ($p < 0,05$), zu den paargefütterten um -15 % ($p < 0,05$) erniedrigt.
Die cGMP - Konzentration blieb bei EAS - Gabe unverändert, war jedoch bei zusätzlicher KS - Gabe um -43 % ($p < 0,001$) erniedrigt.

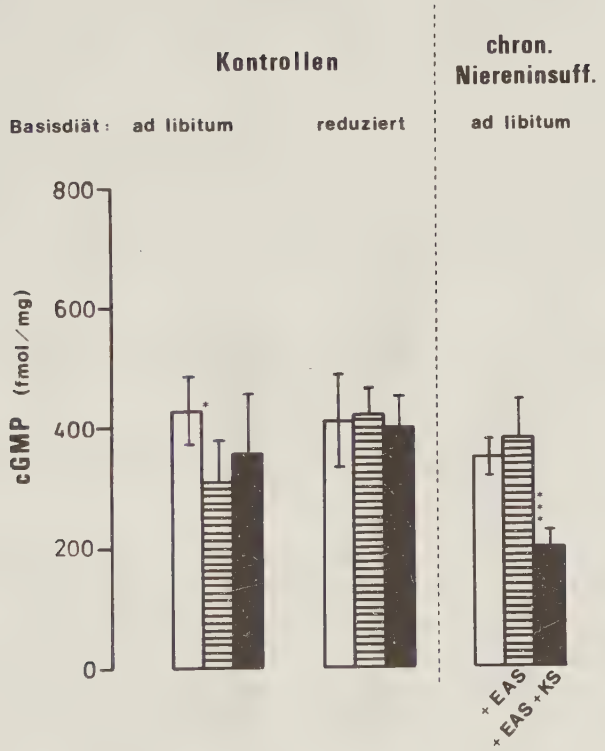

Abb. 7: In Analogie zur Abb. 6 wird der Einfluß eiweißreduzierter Diäten unter EAS- bzw. KS/EAS - Zusatz auf den cGMP - Gehalt des Gehirns von chronisch niereninsuffizienten Ratten und ihren Kontrollgruppen dargestellt.

Mittelwerte ± SEM, n = 6 bis 12 pro Gruppe

2.3. Mittlere cAMP - Konzentrationen im Muskel

Die Effekte von verschiedenen eiweißreduzierten Diätformen auf den cAMP - Gehalt im Muskel von cni Ratten sind in Abb. 8 dargestellt.

Der cAMP - Gehalt im Muskel normalernährter Kontrollratten betrug 1,34 $\pm$ 0,19 ($\pm$ SEM) pmol/mg Protein. Zusätzliche EAS - Gabe bewirkte einen leichten Anstieg der cAMP - Konzentration um +17 % (n.s.). Bei zusätzlicher KS - Gabe fanden sich nahezu identische Werte mit denen der normalernährten Tiere.

Bei Nahrungsrestriktion war der cAMP - Gehalt bei proteinarmer Diät im Vergleich zu den ad lib. ernährten Tieren um -19 % ($p < 0,01$) erniedrigt.
Zusätzliche Gabe von EAS bewirkte einen Anstieg um +29 % ($p < 0,001$) und von KS einen Anstieg von +54 % ($p < 0,001$).

Bei den cni Ratten war der cAMP - Gehalt bei proteinarmer Basisdiät allein im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen, sowohl zur ad lib. ernährten (-33 %, $p < 0,001$) wie zur Gruppe mit Nahrungsrestriktion (-18 %, $p < 0,01$) erniedrigt. Zusätzliche Gabe von EAS bewirkte einen cAMP - Anstieg um +43 % ($p < 0,01$) auf vergleichbare Werte mit der Gruppe bei Nahrungsrestriktion, zusätzliche KS - Gabe um +28 % ($p < 0,001$), wobei zu der Erhöhung durch EAS kein signifikanter Unterschied bestand.

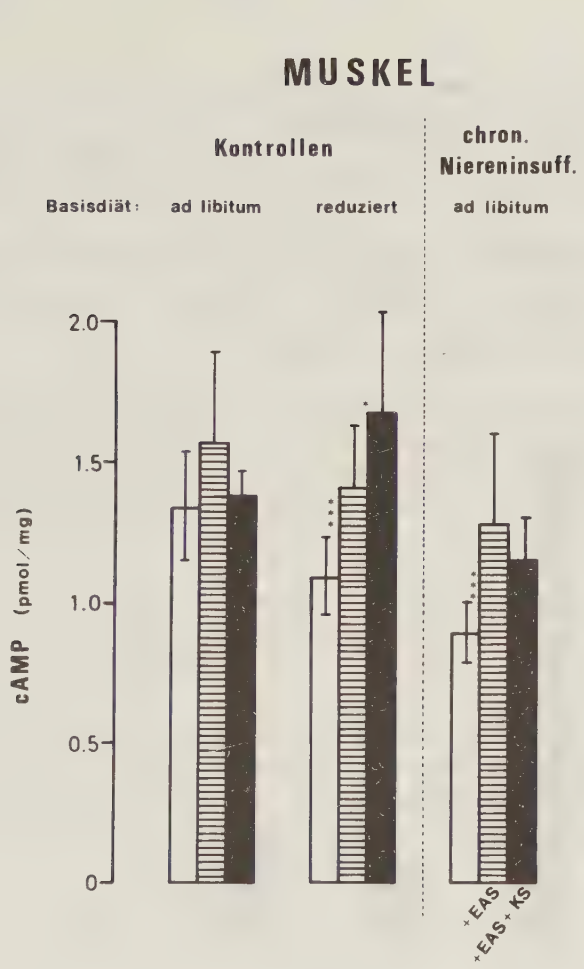

Abb. 8: In Analogie zu Abb. 6 wird der Einfluß eiweißreduzierter Diäten unter EAS- bzw. KS/EAS - Zusatz auf den cAMP - Gehalt des Muskels von chronisch niereninsuffizienten Ratten und ihren Kontrollgruppen dargestellt.

Mittelwerte ± SEM, n = 7 bis 12 pro Gruppe

2.4. Mittlere cGMP - Konzentrationen im Muskel

Wie in Abb. 9 gezeigt, betrug der cGMP - Spiegel im Muskel von mit proteinarmer Basisdiät ernährten Kontrollratten 0,001 ± 0,00028 (± SEM) pmol/mg Protein.

Zusätzliche EAS - Gabe führte zu einer Erniedrigung des cGMP - Gehaltes um -27 % ($p < 0,01$).
Bei KS - Gabe fanden sich gegenüber der normalernährten Gruppe unveränderte Werte.

Durch Nahrungsrestriktion war der cGMP - Spiegel bei proteinarmer Basisdiät um -46 % erniedrigt ($p < 0,001$), demgegenüber war der cGMP - Gehalt bei zusätzlicher EAS - Gabe erhöht um +46 % ($p < 0,001$), bei zusätzlicher KS - Gabe unverändert.

Bei den chronisch niereninsuffizienten Tieren war cGMP bei proteinarmer Diät im Vergleich zu den ad lib. ernährten um +30 % (n.s.), zu den paargefütterten um +14 % ($p < 0,001$) erhöht.
Zusätzliche EAS - Gabe führte zu weiterem Anstieg des cGMP - Gehaltes um +54 % ($p < 0,001$), dieser Anstieg wurde durch zusätzliche KS - Gabe wesentlich verstärkt um +354 % ($p < 0,001$).

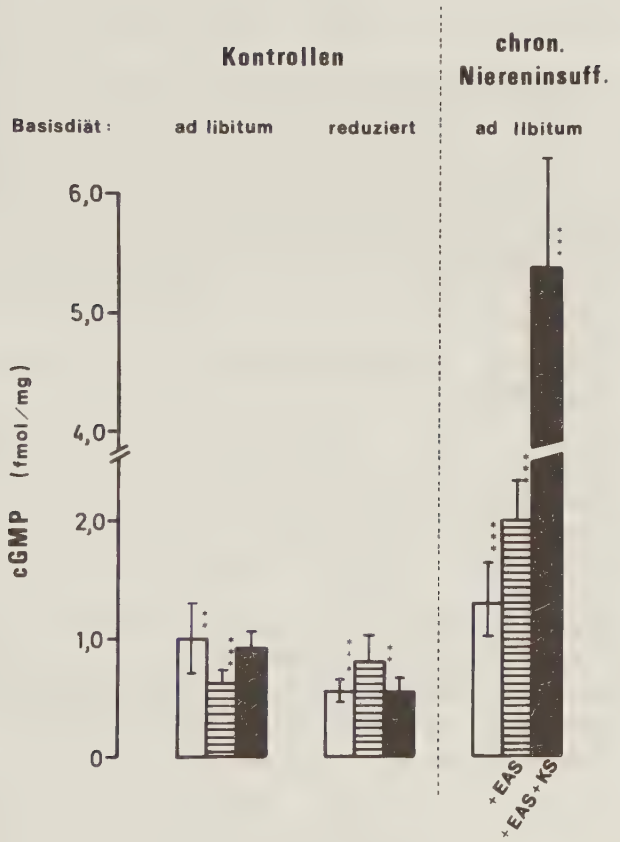

Abb. 9: In Analogie zur Abb. 6 wird der Einfluß eiweißreduzierter Diäten unter EAS- bzw. KS/EAS - Zusatz auf den cGMP - Gehalt des Muskels von chronisch niereninsuffizienten Ratten und ihren beiden Kontrollgruppen dargestellt.

Mittelwerte ± SEM, n = 7 - 12 Ratten pro Gruppe

IV. DISKUSSION

1. Proteingehalt der Diäten, Vergleich mit der Literatur

Gleich kalorische Diäten mit unterschiedlichen Proteingehalten bewirken unterschiedliche Effekte auf Wachstum, Nierenfunktion und Überlebensrate (s. Lit. bei 19). Dabei haben sowohl Proteinmangel (7 %) als auch proteinreiche Diät (37 %) einen negativen Effekt auf das Wachstum der nephrektomierten Ratten, hohe Proteingaben führen außerdem zu einer rapiden Verschlechterung der Nierenfunktion. Am besten scheint eine proteinarme Diät zu sein, gemessen an Serumharnstoff- und - Kreatininverlauf und am Wachstum.

Bei cni Ratten wurde ein fast normales Wachstum wiederhergestellt, durch Gabe des Mindestbedarfs von 14 % Protein oder durch Zugabe von EAS und Histidin zu einer Proteinmangeldiät von 7 % Eiweiß, die zu einem Proteingehalt von nur 8,25 % führte (19).

In der vorliegenden Arbeit wurde als Basisdiät eine proteinarme Diät mit 6 % Eiweiß verwandt. Zugabe von 120 mg EAS bzw. KS/EAS pro Tag per Schlundsonde führte zu einem Gesamtproteingehalt der Diät von 6,8 % bei den cni Tieren. Es ist hier kein optimales Wachstum angestrebt worden, sondern der Proteingehalt wurde absichtlich extrem niedrig gehalten, um Effekte der EAS bzw. KS auf die cyclischen Nukleotide besser abgrenzen zu können.

2. Effekte von EAS und KS auf den Gewichtsverlauf

Betrachten wir den Gewichtsverlauf in Abhängigkeit von den verschiedenen Diäten, so finden wir bei den mit

proteinarmer Diät ad libitum ernährten Tieren einen leichten Gewichtsanstieg; bei EAS/KS - Zusatz stagnierte das Gewicht, was möglicherweise auf den Streß durch die tägliche Schlundsondenfütterung zurückzuführen ist.

Während in der cni Gruppe bei proteinarmer Diätgabe das Gewicht geringfügig, aber kontinuierlich absinkt (bis unter den Ausgangswert), erfolgte bei EAS- bzw. KS - Zusatz zunächst ein Anstieg des Gewichtes, das erst zur 7. Woche hin wieder etwas zurückging; es resultiert ein leichter Gewichtsanstieg bei EAS- und KS - Zusatz, was als positiver Effekt gewertet werden kann.

3. Korrelation zwischen Gewicht, Harnstoff, Kreatinin und Niereninsuffizienz; Effekte von EAS- und KS - Zusatz

Der Gewichtsverlauf korreliert mit einem Abfall, zum Ende hin wieder Anstieg, des Serum - Harnstoffs und einer stetigen Abnahme des Serum - Kreatininspiegels: der Serum - Harnstoff der cni Ratten ging zunächst unter der proteinarmen Diät rapide zurück, wobei EAS- und KS - Zusatz nicht einen verringerten Abfall verursachten; es läßt sich daher vermuten, daß die EAS und KS zum Proteinaufbau herangezogen wurden. Der erneute Harnstoffanstieg 14 Wochen nach subtotaler Nephrektomie läßt sich evtl. mit der Phase der Spätschäden in der 9. bis 25. Woche post op. erklären, in der nach ROMEN (17) alle Ratten eine Glomerulosklerose entwickeln. Der Serum - Kreatiningehalt bei den cni Ratten fällt bis auf den doppelten Normalwert kontinuierlich ab, was sich entweder durch eine Reduzierung der Muskelmasse, entsprechend der Gewichtsabnahme, erklären ließe, oder durch eine Regeneration von Nierengewebe.

Da die Harnstoff- bzw. Kreatininkonzentrationen im Serum nach der Dekapitation bei den verschiedenen Diätgruppen

keine signifikanten Unterschiede zeigen, konnten die cyclischen Nukleotidkonzentrationen gut im Blockdiagramm verglichen werden, was bei einer starken Variation der Nierenwerte nicht möglich gewesen wäre, da die cAMP - Konzentrationen im Gehirn mit dem Grad der Niereninsuffizienz korrelieren (31).

4. Kritische Betrachtung der gewonnenen Ergebnisse im Vergleich mit der Literatur

Die Zugabe von Ketoanalogen zu einer proteinarmen Diät bei gemäßigter CNI hat gegenüber EAS - Zusatz laut verschiedener Literaturstellen folgende Vorteile: Verbesserung der N - Bilanz (36), Reduktion der Harnstoffbildung (16, 37), Normalisierung der Konzentration mehrerer Funktionsproteine (20), teilweise Korrektur der Plasma - AS - Verschiebung (40). Mit der vorliegenden Versuchsanordnung ließen sich zwischen den betreffenden Effekten der EAS- und KS - Zusätze keine signifikanten Unterschiede ermitteln. Vielmehr ergeben beide die obengenannten ersten zwei Verbesserungen. Vielleicht werden bei der extrem proteinarmen Diät von 6,8 % Eiweiß die EAS genauso wie die KS vollständig zur Proteinsynthese herangezogen und fließen nicht in die Harnstoffbildung ein. Dafür würde sprechen, daß die Rattengewichte bei EAS- und KS - Zusatz gleichmäßig zunehmen, bei proteinarmer Diätgabe allein jedoch abnehmen; beim Serum - Harnstoff - und Kreatinin - Gehalt der cni Ratten sich dagegen durch die drei Diätformen keine Unterschiede ergeben.
cAMP- und cGMP - Veränderungen im Gehirn und Muskel sind für die Stoffwechselaktivität spezifischere Parameter als Gewichtsverlauf und Serumwerte.

5. In der Literatur beschriebene Zusammenhänge zwischen Nahrungsaminosäuren, Neurotransmittern und cyclischen Nukleotiden

Die Synthese von Neurotransmittern spricht schnell auf Änderungen im Vorhandensein von Aminosäurevorstufen an. So hängt die Serotoninsynthese im Gehirn weitestgehend von der L - Tryptophankonzentration ab (8). Die Aufnahme der Nahrungsaminosäure in das Gehirn entspricht dabei nicht der Serum - Tryptophankonzentration, sondern deren Verhältnis zu den anderen großen neutralen Aminosäuren, die mit dem Tryptophan um die Aufnahme in das Gehirn konkurrieren (15).

Bezogen auf cni Ratten fanden SIASSI et al. (34) eine Erniedrigung der Gesamtmenge an Plasma-Tryptophan und eine Erhöhung der Menge an freiem Tryptophan, die mit einer erhöhten Umsatzrate des Serotonins im Gehirn korreliert. In Analogie hierzu wurden Symptome von serotoninabhängigen neurologischen Alterationen wie Schlafstörungen, Hypothermie, Schwindelanfälle, psychiatrische Störungen, Desorientierung, plötzliche Anfälle und Koma bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz beschrieben (7).

Ähnlich, wenn auch in geringerem Maße, hängt die Synthese der Katecholamine (Dopamin, Noradrenalin) von der Verfügbarkeit der Vorläufer-Aminosäure L-Tyrosin und Phenylalanin ab (39).

Die Neurotransmitter Serotonin, Noradrenalin, Dopamin und Histamin bewirken alle eine cAMP - Akkumulation, z.B. in inkubierten Gehirnschnitten (33). Keinen Effekt dagegen zeigen Acetylcholin, Glutamat und GABA (14).
Die Beziehung zwischen Verfügbarkeit der z.T. nahrungsabhängigen (9) Aminosäurenvorstufen aus der Peripherie und der Neurotransmittersynthese im Gehirn könnte schließ-

lich das Gehirn mit Informationen über periphere metabolische Verhältnisse triggern. Die cyclischen Nukleotide wiederum können ein Indikator der Neurotransmittersynthese im Gehirn oder in anderen Organen sein (33).

6. Problematik der cyclischen Nukleotidbestimmung

Eine große Schwierigkeit bei der Messung der cAMP - Konzentration ist die merkliche Fluktuation, die postmortal auftritt. Nach Dekapitation steigen die cAMP - Werte rasch auf das 3- bis 15-fache an (32), erreichen nach 1 - 3 Minuten ein Maximum und fallen dann langsam ab über einen Zeitraum von mehreren Minuten, vermutlich initiiert durch postmortale Neurotransmitterfreisetzung. Es ist also wichtig, daß eine normierte, relativ kurze Zeit zwischen Dekapitation und Mikrowellenbestrahlung des Gehirns eingehalten wird. Durch diese Hitzedenaturierung werden Adenylcyclase und Phosphodiesterase inaktiviert, während die cyclischen Nukleotide hitzestabil sind.

7. Cyclische Nukleotidkonzentrationen, Vergleich mit der Literatur

Bei diesem Vorgehen ergaben sich bei den Kontrolltieren, die 8 Wochen lang proteinarme Diät ad libitum erhalten hatten, folgende Werte (an verschiedenen Literaturstellen bestätigt):

im Gehirn: 13,4 ± 1,9 (± SEM) pmol cAMP/mg Protein (6, 10, 18, 32)
0,43 ± 0,05 (± SEM) pmol cGMP/mg Protein

im Muskel: 1,34 ± 0,19 (± SEM) pmol cAMP/mg Protein
0,001 ± 0,0003 (± SEM) pmol cGMP/mg Protein

Wir bezogen die cyclischen Nukleotidkonzentrationen auf mg Protein, während in den zitierten Literaturstellen auf mg Naßgewicht des Gewebes bezogen wird; daraus ergeben sich 6- bis 7-fach höhere Werte bei unseren Ergebnissen.
Das Verhältnis von cAMP : cGMP = 31 : 1 im Gehirn wird bestätigt durch STEINER et al., daß in den meisten Geweben, die meisten Gehirngebiete eingeschlossen, die endogenen cGMP - Spiegel nur 1/10 bis 1/50 von denen des cAMP sind (13, 35). Entsprechend Aussagen von ROBISON (26) fanden auch wir im Wirbeltiergehirn eine 10-fach größere cAMP - Konzentration als im Muskel.

8. Vergleich der EAS- bzw. KS - Zusätze auf cAMP- und cGMP - Konzentration im Gehirn und Muskel

Bei den mit proteinarmer Diät ad libitum ernährten Kontrolltieren hatte weder EAS- noch KS - Gabe eine Wirkung auf den cAMP - Spiegel im Gehirn, während bei reduzierter Kost eine Tendenz zur Erniedrigung erkennbar war. Bei den cni Ratten fand sich eine Fortsetzung der cAMP - Erniedrigung, durch Zugabe von EAS stieg der cAMP - Wert wieder leicht an und war bei Zugabe von KS/EAS sogar normal. Diese Tendenz zur Normalisierung wurde schon unter Reduktionskost angedeutet.
Der cGMP - Spiegel im Gehirn betrug nur 1/30 der cAMP - Konzentration. Innerhalb der verschiedenen Gruppen ergaben sich keine wesentlichen Veränderungen, nur in der CNI - Gruppe fiel eine cGMP - Erniedrigung unter KS/EAS - Zusatz auf, was zu der cAMP - Erhöhung paßt, da cAMP und cGMP oft divergentes Verhalten zeigen.

Die cAMP - Konzentration im Muskel betrug nur 1/10 derjenigen im Gehirn. Unter den Versuchsbedingungen zeigte sich ein angedeutet analoges Verhalten, nämlich kei-

ne Unterschiede bei den ad libitum ernährten Gruppen, Abnahme des cAMP bei Nahrungsreduktion, die bei der CNI noch stärker ausgeprägt war, wobei sich auch hier eine Tendenz zur Normalisierung durch zusätzliche EAS- bzw. KS/EAS - Gabe zeigte.

Beim cGMP im Muskel fiel eine ausgeprägte Erhöhung in der cni Gruppe auf, also ein gegenläufiges Verhalten zum cAMP, mit starker Erhöhung unter EAS - Zusatz und extremem Anstieg bei KS/EAS - Gabe.

In vorausgegangenen Versuchen wurde in Abhängigkeit vom Grad der Niereninsuffizienz ein biphasischer Verlauf der cAMP - Konzentration gefunden, mit cAMP - Erniedrigung bei geringer Einschränkung der Nierenfunktion und zunehmender Erhöhung bei terminaler Niereninsuffizienz (29, 30).

Die Ursachen dieses Verhaltens sind ungeklärt, andere Parameter, wie die Proteinkinase, zeigen eine ähnliche Abhängigkeit vom Ausmaß der Niereninsuffizienz.

Die Ergebnisse lassen vermuten, daß bei der CNI und unter den Bedingungen der Proteineinschränkung KS - Zusatz dem EAS - Zusatz überlegen ist, zumindest in bezug auf die Normalisierungstendenz des cAMP im Gehirn. Noch kann nicht gesagt werden, ob diese Verbesserung auf eine bessere Verträglichkeit der Diät oder einen spezifischen Effekt der Ketoanalogen zurückzuführen ist. Auch wenn diese Tierexperimente nur mit Einschränkung auf den Menschen übertragbar sind, ist doch interessant, daß eine cAMP - Normalisierung durch zusätzliche KS - Gabe mit Vigilanzuntersuchungen von HEIDLAND et al. (16) korreliert, nach denen nach 6 Wochen KS - Gabe fast die Hälfte der cni Patienten eine subjektive Besserung der Vigilanz angaben, die durch psychologische Tests verifiziert wurde.

Die eigentlichen Ursachen für die Veränderungen der cyclischen Nukleotide sind ungeklärt, hormonelle und biochemische Einflüsse greifen hier ineinander und müßten im einzelnen noch untersucht werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß verschiedener Diätformen auf den cyclischen Nukleotidgehalt (cAMP und cGMP) in verschiedenen Organen gesunder und chronisch niereninsuffizienter Ratten untersucht. Bei den cni Tieren handelt es sich um 5/6 - nephrektomierte Ratten mit Nachresektion. Als Kontrollen dienten scheinoperierte paargefütterte Ratten und Ratten mit Nahrungsaufnahme ad libitum. Es wurden eiweißreduzierte Diäten (6 % Protein) unter Zusatz von EAS bzw. KS/EAS über 6 1/2 Wochen gegeben. Als Organe wurden Muskel (hoher Proteinumsatz) und Gehirn (hoher Neurotransmittergehalt mit konsekutiv hohem Nukleotidstoffwechsel) ausgewählt.

Weitere Parameter waren der Verlauf der Serum - Harnstoff - und - Kreatinin - Konzentrationen, der Nahrungsaufnahme und des Gewichtes.

Mit der vorliegenden Versuchsanordnung ließen sich zwischen den Auswirkungen der EAS- und KS - Zusätze auf Serum - Harnstoff - und - Kreatininverlauf keine signifikanten Unterschiede ermitteln. Ein Anstieg der Rattengewichte bei EAS- bzw. KS - Zusatz (n.s.) läßt vermuten, daß beide zum Proteinaufbau herangezogen werden, da ansonsten der Harnstoff zumindest bei EAS - Gabe ansteigen müßte.

Bei den mit proteinarmer Diät ad libitum ernährten Kontrolltieren hatte weder EAS- noch KS - Gabe eine Wirkung auf den cAMP - Spiegel, während bei reduzierter Kost eine Tendenz zur Erniedrigung erkennbar war. Bei den 5/6 - nephrektomierten Ratten nahm die cAMP - Konzentration weiter ab, durch Zugabe von EAS stieg der cAMP - Wert wieder leicht an und war bei zusätzlicher KS - Gabe sogar normal.

Der cGMP - Spiegel im Gehirn betrug nur 1/30 der cAMP - Konzentration. Innerhalb der verschiedenen Gruppen ergaben sich keine wesentlichen Veränderungen, nur bei den cni Ratten fiel eine cGMP - Erniedrigung unter KS - Zusatz auf, divergierend zum cAMP - Wert.

Die cAMP - Konzentration im Muskel betrug nur 1/10 derjenigen im Gehirn. Unter den Versuchsbedingungen zeigte sich ein angedeutet analoges Verhalten zum cAMP im Gehirn.

Beim cGMP im Muskel fiel eine ausgeprägte Erhöhung in der cni - Gruppe auf, also ein gegenläufiges Verhalten zum cAMP, mit starker Erhöhung unter EAS - Zusatz und extremem Anstieg bei KS - Gabe.

Die Ergebnisse lassen vermuten, daß bei der chronischen Niereninsuffizienz und unter den Bedingungen der Proteineinschränkung KS - Zusatz dem EAS - Zusatz überlegen ist, zumindest in bezug auf die Normalisierungstendenz des cAMP im Gehirn.

Herrn Professor Dr.med. A. Heidland danke ich für die Überlassung des Themas und die Arbeitsmöglichkeiten im Versuchslabor.

Herrn Priv.Doz. Dr.med.habil. G. Schmid danke ich für die wertvolle Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit.

Mein Dank gilt auch Frl. E. Scheuermann für ihre freundliche Hilfe bei der Tierbetreuung.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ADDIS, T.A.: Glomerular nephritis diagnosis and treatment. New York: Mac Millan, 1948

2. BERGSTRÖM, J., FÜRST, P., NORÉE, L.O.: Treatment of chronic uremic patients with protein-poor diet and oral supply of essential amino acids. Clin. Nephrol. 3: 187, 1975

3. BERLYNE, G.M., SHAW, A.B., NILWARANGKUR, A.S.: Dietary treatment of chronic renal failure. Nephron 2: 129, 1965

4. CHANUTIN, A., FERRIS, E.B.: Arch. intern. Med. 49: 767, 1932

5. CHOW, K.W., WALSER, M.: Effect of nitrogen restriction on the utilization of α-ketoisovaleriate for growth of the weanling rat. J. Nutr. 105: 119, 1975

6. CRAMER, H., PAUL, M.I., SILVERGELD, S. and FORN, J.: Determination of regional distribution of adenosine 3',5'-monophosphate in rat brain. J. Neurochem. 18: 1605-1608, 1971

7. DINAPOLI, R.P. and JOHNSON, W.J.: Neurologic complications in chronic renal failure. Med. Clin. N. Am. 52: 68, 1968

8. FERNSTROM, J.D. and WURTMAN, R.J.: Brain serotonin content: physiological regulation by plasma neutral amino acids. Science 178: 414, 1972

9. FERNSTROM, J.D., HIRSCH, M.J.: Rapid repletion of brain serotonin in malnourished, cornfed rats following L-tryptophan injection. Life Sci. 17: 455-464, 1975

10. FERRENDELLI, J.A., STEINER, A.L., McDOUGAL, D.B. and KIPNIS: The effect of oxotremorine and atropine on cGMP and cAMP levels in mouse cerebral cortex and cerebellum. Biochem. Biophys. Res. Commun. 41: 1061-1067, 1970

11. GEORGE, W.J., POLSON, J.B., O'TOOLE, A.G., GOLDBERG, N.D.: Elevation of guanosine 3',5' - cyclic phosphate in rat heart after perfusion with acetylcholine. Proc. Nat. Acad. Sci. 66: 398-403, 1970

12. GIORDANO, C.: Use of exogenous and endogenous urea for protein synthesis in normal and uremic subjects.
J. Lab. Clin. Med. 62: 231, 1963

13. GOLDBERG, N.D., DIETZ, S.B. and O'TOOLE, A.G.: Cyclic guanosine 3'5'-monophosphate in mammalian tissues and urine.
J. Biol. Chem. 244: 4458-4466, 1969

14. GREENGARD, P., COSTA, E.: Role of cyclic AMP in cell function.
Raven press, New York, 1970

15. GUROFF, G., UDENFRIED, S.: Studies on aromatic amino acid uptake by rat brain in vivo.
J. Biol. Chem. 237: 803-806, 1962

16. HEIDLAND, A., KULT, J., RÖCKEL, A. and HEIDBREDER, E.: Evaluation of essential amino acids and keto acids in uremic patients on low-protein diet.
Am. J. Clin. Nutr. 31: 1784-1791, 1978

17. HEINE, W.D., ROMEN, W., GUMBEL, U.: Nierenregeneration nach subtotaler (5/6-)Nephrektomie. Autoradiographische Untersuchungen.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 57: 460, 1973

18. KIMURA, THOMAS, H.E. and MURAB, F.: Effects of decapitation, ether and pentobarbital on guanosine 3'5'- und adenosine 3'5'-phosphate levels in rat tissues.
Biochem. Biophys. Acta 343: 519-528, 1974

19. KLEINKNECHT et al.: Various protein diets: effects on growth, renal function and survival of uremic rats.
Kid. intern. 15: 534-541, 1979

20. KULT, J., RICHTER, U., SCHEITZA, E., HENNEMANN, H., HEIDLAND, A.: Störungen im Komplementsystem bei Niereninsuffizienz und ihre Beeinflussung durch Aminosäurensubstitution.
Dt. med. Wschr. 99: 339, 1974

22. MARSH, FINGERHUT, MILLER:
Clin. Chem. 11: 624, 1965

23. MEISTER, A.: Biochemistry of the aminoacids.
New York. Academic press, vol. II: 223, 1965

24. RICHARDS, P., BROWN, C.L., HONGTON, B.J., THOMPSON, E.: Synthesis of Phenylalanine and valine by healthy and uremia man.
Lancet 2: 128, 1971

25. RICHARDS, P.: Direct evidence for synthesis of valine in man.
The Lancet, Jan. 15: 112-114, 1977

26. ROBISON, G.A., BUTCHER, R.W., SUTHERLAND, E.W.: Cyclic AMP.
New York: Academic, 1971

27. ROLLER, F., RÖCKEL, A., HEIDLAND, A.: Kartoffel - Ei - Diät und gemischte proteinarme Diät bei Niereninsuffizienz.
Med. Klin. 71: 112, 1976

28. SCHLOERB, P.: Essential L-amino acid administration in uremia.
Am. J. Med. Sci. 252: 650, 1966

29. SCHMID, G., FRICKE, L., HEMPEL, K. und HEIDLAND, A.: Erhöhter cAMP-Gehalt des quergestreiften Muskels bei chronischer Niereninsuffizienz.
Dtsch. Med. Wschr. 100: 2397, 1975

30. SCHMID, G., BRETSCHER, Ch., HEMPEL, K. und HEIDLAND, A.: Cyclische Nukleotide (cGMP und cAMP) im Gehirn der Ratte bei fortgeschrittener, chronischer Niereninsuffizienz.
VI. Symposium: Aktuelle Probleme der Dialyseverfahren in der Niereninsuffizienz.
Innsbruck, 1977

31. SCHMID, G., PRZUNTEK, H., FRICKE, L., HEIDLAND, A. and HEMPEL, K.: Increased histidine and histamine content in the brain of chronic uremic rats. Cause of enhanced cerebral cyclic adenosine monophosphate in uremia?
Am. J. Clin. Nutr. 31: 1665-1668, 1978

32. SCHMIDT, M.J., SCHMIDT, D.E. and ROBISON, G.A.: Cyclic adenosine monophosphate in brean areas: microwave irradiation as a means of tissue fixation.
Science 173: 1142-1143, 1971

33. SHIMIZU, H., CREVELING, C.R., DALY, J.W.: Effect of membrane depolarization and biogenic amines on the formation of cyclic AMP in incubated brain slices.
Adv. Biochem. Psychopharmacol. 3: 135-154, 1970

34. SIASSI, F., WANG, M., KOPPLE, J.D. and SWENSEID, M.E.: Brain serotonin turnover in chronically uremic rats.
Am. J. Physiol. 232: 526, 1977

35. STEINER, A.L., PAGHARA, A.W., CHASE, L.R. and KIPNIS, D.M.: Radioimmunoassay for cyclic nucleotides. II. Adenosine 3'5'-monophosphate and guanosine 3'5'-monophosphate in mammalian tissues and body fluids.
J. Biol. Chem. 247: 1114-1120, 1972

36. WALSER, M., COULTER, A.W., DIGHE, S., CHANTZ, F.R.: The effect of ketoanalogues of essential amino acids in severe chronic uremia. J. Clin. Invest. 52: 678, 1973

37. WALSER, M.: Ketoacids in the treatment of uremia. Clin. Nephrol. 3: 180, 1975

38. WHITE, A.A.: Separation and purification of cyclic nucleotides by alumina column chromatography. In: Hardman J.G., O'Malley, B.W. (eds.), Methods in enzymology, Vol. XXXVIII: Hormon action, Part C: Cyclic nucleotides. Academic Press, London - New York: 41-46, 1974

39. WURTMAN, R.J., LARIN, F., MOSTAFAPOUR, S., FERNSTROM, J.D.: Brain catechol synthesis: control by brain tyrosine concentration. Science 185: 183-184, 1974

40. ZIMMERMANN, E.W., MEISINGER, E., WEINEL, B. and STRAUCH, M.: Essential amino acid/ketoanalogue supplementation: an alternative to unrestricted protein intake in uremia. Clin. Nephrol. 11/2: 71-78, 1979

L E B E N S L A U F

Am 3. Oktober 1951 wurde ich als Tochter des Technikers Kurt Wieck und seiner Frau Annedore, geb. v. Bosse, Buchhalterin, in Braunschweig geboren.

Von 1957 bis 1961 besuchte ich die Grundschule, von 1961 bis zum Abitur 1970 das Ina - Seidel - Gymnasium in Braunschweig. Nach zweijähriger Apothekerpraktikantenzeit bestand ich das pharmazeutische Vorexamen und studierte von 1972 bis 1976 Pharmazie an der Carolo - Wilhelmina - Universität Braunschweig. Im Anschluß an die Approbation als Apothekerin nahm ich im SS 1976 das Medizinstudium an der Julius - Maximilians - Universität Würzburg auf, wo ich im Oktober 1981 den III. Teil des medizinischen Staatsexamens ablegte.

Renate Wieck

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80